



TITLE:

# 蛇毒血液凝固酵素に関する研究( Abstract\_要旨)

AUTHOR(S):

佐藤, 忠司

---

CITATION:

佐藤, 忠司. 蛇毒血液凝固酵素に関する研究. 京都大学, 1968, 薬学博士

ISSUE DATE:

1968-09-24

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/212958>

RIGHT:

【159】

氏 名	佐 藤 忠 司
	さとうただし
学 位 の 種 類	薬 学 博 士
学 位 記 番 号	薬 博 第 59 号
学位授与の日付	昭 和 43 年 9 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	薬 学 研 究 科 薬 学 専 攻
学位論文題目	蛇毒血液凝固酵素に関する研究
論文調査委員	(主 査) 教 授 山 科 郁 男 教 授 上 尾 庄 次 郎 教 授 高 木 博 司

論 文 内 容 の 要 旨

マムシ科の蛇の毒が血液凝固促進作用をもつことについてはかなりの報告があり、すでに止血剤として臨床的にも応用されている。しかし血液凝固酵素を分離、精製した報告は少なく、したがってその性質や作用機構は明らかでない。著者は日本産のマムシ毒の血液凝固酵素を分離、精製し、血液凝固酵素の代表的なトロンビンと比較して研究を行なうとともに外国産のマムシ科の蛇の毒の血液凝固酵素について研究を行ない、次の知見をえた。

- (1) マムシ毒を DEAE—セルローズで分画し、更にハイドロキシルアパタイト、DEAE—セファデックスなどのクロマトグラフィーをおこなって精製し、超遠心的、シアノガム電気泳動的に均一なトロンビン様の血液凝固酵素をえた。
- (2) 精製した血液凝固酵素のアミノ酸組成と糖含量をしらべた結果、塩基性アミノ酸に比べて、アスパラギン酸、グルタミン酸を若干多く含み、また7～8%の中性糖と6～7%のアミノ糖を含んでいることから弱酸性の糖蛋白質であることが分った。超遠心分析の結果、沈降係数は3.08 Sであり、ゲル濾過から求めた分子量は28,800であった。紫外部吸収測定の結果、 $\lambda_{\max.} = 278 \text{ m}\mu$ ,  $\lambda_{\min} = 250 \text{ m}\mu$ ,  $E_{280}^{1\%} = 8.1$ であった。
- (3) 血液凝固酵素は熱に安定であり、至適 pH は clotting 活性（フィブリノーゲン→フィブリン変換）が7.5, AE—加水分解活性（アルギニンエステル加水分解活性）が8.5であった。種々の阻害剤の影響をしらべた結果、SBTI (soy bean trypsin inhibitor), EWTI (egg white trypsin inhibitor), 血清中のアンチトロンビンでは阻害されないが、DFP (diisopropyl fluorophosphate) によって阻害された。しかしながらヘパリンによっては clotting 活性は阻害されるが AE—加水分解活性は逆に増強される現象を認めた。
- (4) 血液凝固酵素は DFP に対する態度や clotting 活性が AE—加水分解活性の基質になる TAME ( $\alpha$ —N—tosyl—L—arginine methylester) によって阻害されることから両活性は不可分の関係にあるこ

とを知った。

- (5) 種々の合成基質を用いて基質特異性をしらべた結果、アルギニンのエステルのみを加水分解し、他のアミノ酸のエステルやアルギニンアミドは加水分解せず、またカゼインも加水分解しなかった。
- (6) TAME を用いての動力学的定数をしらべた結果、 $K_m = 2.12 \times 10^{-3} M$ ,  $V_{max} = 18.2 \mu\text{mole/min.}, \text{mg protein}$  であった。
- (7) ヘパリン、血清中のアンチトロンビンに対する態度や凝固する際に遊離するフィブリノペプチドの数のちがいから血液凝固酵素はトロンビンとことになっていた。
- (8) マムシ毒血液凝固酵素と *Bothrops jararaca* 毒の血液凝固酵素は DFP やヘパリンに対する態度や凝固する際に遊離するフィブリノペプチドの数のちがいなどからことになっていた。また *Crotalus adamanteus* 毒の血液凝固酵素は阻害剤に対する態度が前二者とことになっていた。したがってマムシ科に属する蛇の毒でも属がちがえばそれぞれことになった type の血液凝固酵素をもつことがわかった。

### 論文審査の結果の要旨

蛇毒のもつ毒性成分の研究は咬傷による病変の治療法の確立の為に必要であるばかりでなく、毒性の様式の如何によっては有毒性成分の医薬としての利用の道を開くものでもある。

蛇毒の毒性は神経作用、出血作用、血液凝固作用の三つに大別されるが、このうち血液凝固作用に関しては従来ほとんど研究されていなかった。

本論文は本邦産のマムシについてその血液凝固活性を酵素化学的に追求してその本体、および作用機作を明らかにしたものである。

すなわち、マムシ粗毒をイオン交換セルロースを用いて詳細に分画し、さらに各種の手法によって精製を繰返し、血液凝固活性を有するタンパク質を単離することに成功している。化学的本体、および諸性質についての研究からこの活性物質がトロンビン様の酵素であることを明らかにしている。

この血液凝固酵素はフィブリノゲンに作用して3種のペプチドを遊離し、同時に凝固をおこさせるが、遊離されたペプチドのうち一つはトロンビンが遊離するものとは異なり蛇毒の血液凝固酵素に独特のものである。本論文においてはさらに同じマムシ科の *Bothrops* 属および *Crotalus* 属の蛇のもつ血液凝固酵素についてそれらの酵素化学的性質が比較検討されており、これらの諸種の血液凝固酵素がフィブリノゲンに対する作用、阻害物質の影響などの点においてそれぞれ若干の相違を有するものの本質的には類似した作用を示すことが明らかにされている。

以上の結果、蛇毒の血液凝固活性の本体が明らかにされ、蛇毒の毒性の一つの機作が解明された。

現在、マムシ毒を止血剤として臨床的に応用することも試みられており、本研究は蛇毒の本体に関する一基礎的研究たるに止まらず、さらに薬学的応用に関しても有用な知見をもたらしたものである。

よって本論文は薬学博士の学位論文として価値あるものと認定する。